Instructions For Use
ENGLISH

R2A Agar

Medium for enumerating heterotrophic organisms
in water, according to the EP and APHA.

DESCRIPTION

R2A Agar is a low nutrient medium used for microbial monitoring of treated potable water.

This medium is recommended by the European Pharmacopoeia (EP) and the American Public Health Association (APHA) for the examination of water.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Yeast Extract	0.5
Proteose Peptone	0.5
Casein Hydrolysate	0.5
Glucose	0.5
Starch	0.5
Dipotassium Hydrogen Phosphate	0.3
Magnesium Sulphate, Anhydrous	0.024
Sodium Pyruvate	0.3
Agar	15.0
Final pH 7.2 ± 0.2 at 25°C	

METHOD PRINCIPLE

Yeast extract is a source of vitamins, particularly of B-group. Proteose peptone and casein hydrolysate provide amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Glucose is the fermentable carbohydrate. Starch aids in the recovery of injured organisms by absorbing toxic metabolic by-products. Dipotassium phosphate maintains the osmotic balance the medium. Magnesium sulphate is a source of divalent cations and sulfate. Sodium pyruvate increases the recovery of stressed cells. Agar is the solidifying agent.

PREPARATION

Dehydrated medium	Suspend 18.1 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat to boil shaking frequently until completely dissolved. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes.
Medium in bottles	Melt the content of the bottle in a water bath at 100°C (loosing the cap partially removed) until completely dissolved. Then screw the cap and check the homogeneity of the dissolved medium, if it is the case turning the bottle upside down. Cool at 45-50°C, mix well avoiding foam formation and aseptically distribute into Petri dishes.

TEST PROCEDURE

1. Perform serial dilutions of the water sample in order to achieve a suitable colony count and prepare two sets of plates for each dilution.
2. Inoculate the medium by pour plating, spread plating or membrane filtration method. RODAC plates can also be used directly on surfaces to asses the efficacy of cleaning and sanitization procedures as part of the overall microbiological monitoring program.
3. Incubate aerobically one set of plates at 30-35°C for 3-5 days and the other set at 20-25°C for 5-7 days.

NB. Incubation conditions may vary depending on the organisms under study. Generally, a lower incubation temperature and longer incubation period, stimulates the growth of stressed and chlorine-tolerant bacteria.

INTERPRETING RESULTS

Report the count as CFU/ml of sample allowing for dilution factors and noting incubation time and temperature.

APPEARANCE

Dehydrated medium: free-flowing, homogeneous, light beige.
Prepared medium: slightly opalescent with a slight precipitate, light amber.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store bottles and prepared plates at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

Dehydrated medium: 4 years.
Medium in bottles: 2 years.
Ready-to-use plates: 6 months.

COMMERCIALE DISTRIBUTER SAS

QUALITY CONTROL

Plates are inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.
Inoculum for productivity: ≤ 100 CFU
Incubation conditions: aerobic, 32.5 ± 2.5°C for up to 3 days (bacteria) and at 22.5 ± 2.5°C for 5-7 days (yeasts and moulds).

QC Table.

Microorganism		Growth
*Pseudomonas aeruginosa**	ATCC® 9027	Good
*Bacillus subtilis**	ATCC® 6633	Good
Enterococcus faecalis	ATCC® 19433	Good
Escherichia coli	ATCC® 8739	Good
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538	Good
Candida albicans	ATCC® 10231	Good
Aspergillus brasiliensis	ATCC® 16404	Good

(*) Pharmacopoeia growth promotion.

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use.
The product is intended for professional use only and must be used by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

BIBLIOGRAPHY

1. European Pharmacopoeia 7.0 (2009) Water For Injections / Water, Highly Purified.
2. Clesceri, L.S., A.E. Greenberg, and A.D. Eaton (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
3. Reasoner, D.J. and E.E. Geldreich (1985) Appl. Environ. Microbiol. 49:1-7.

PRESENTATION		Contents	Ref.
R2A Agar	90 mm ready-to-use plates	20 plates	10019
R2A Agar	60 mm ready-to-use plates	20 plates	163672
R2A Agar	55 mm ready-to-use RODAC plates	20 plates	15354
R2A Agar	Bottles (screw cap)	6 x 500 ml bottles	463110
R2A Agar	Bottles (wide neck)	6 x 500 ml bottles	472580
R2A Agar	Bottles (screw cap)	6 x 100 ml bottles	402580
R2A Agar	Dehydrated medium	500 g of powder	610129
R2A Agar	Dehydrated medium	100 g of powder	620129

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	Keep away from sunlight	Manufacturer	Use by	Fragile, handle with care
REF Catalogue number	Temperature limitation	Contains sufficient for <n> tests	Caution, consult Instruction For Use	Do not reuse

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

LIOFILCHEM® s.r.l.
Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net

Istruzioni per l'uso
ITALIANO

R2A Agar

Terreno per il conteggio degli organismi eterotrofi nell'acqua secondo EP ed APHA.

DESCRIZIONE

R2A Agar è un terreno con basso potere nutritivo utilizzato per il monitoraggio microbico dell'acqua potabile trattata.

Questo terreno è raccomandato da European Pharmacopoeia (EP) e da APHA (American Public Health Association) per l'esame dell'acqua.

FORMULA TIPICA	(g/l)
Estratto di Lievito	0.5
Prpteose Peptone	0.5
Idrolizzato di Caseina	0.5
Glucosio	0.5
Amido	0.5
Dipotassio Fosfato	0.3
Magnesio Solfato, Anidro	0.024
Sodio Piruvato	0.3
Agar	15.0
pH Finale 7.2 ± 0.2 a 25°C	

PRINCIPIO DEL METODO

L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, sopratutto del gruppo-B. Proteose peptone ed idrolizzato di caseina forniscono aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita dei microrganismi. Il glucosio è il carboidrato fermentabile. L'amido sostiene il recupero degli organismi danneggiati assorbendo i metaboliti tossici. Il dipotassio fosfato mantiene il bilancio osmotico del terreno. Il magnesio solfato è una fonte di cationi bivalenti e solfato. Il sodio piruvato aumenta il recupero delle cellule stressate. L'agar è l'agente solidificante.

PREPARAZIONE

Terreno disidratato	Sospendere 18.1 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare agitando di frequente e bollire fino a completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.
Terreno in flaconi	Sciogliere il contenuto di un flacone in bagnomaria a 100°C (con i tappi leggermente svitati) fino a completa dissoluzione del terreno. Verificare, una volta fuso, la buona omogeneità del terreno capovolgendo il flacone dopo averne avvitato il tappo. Raffreddare a 45-50°C, mescolare bene senza formazione di bolle. Versare in piastre Petri in condizioni di asepsi.

PROCEDURA DEL TEST

1. Preparare diluizioni seriali del campione di acqua in modo da ottenere un adeguato numero di colonie per il conteggio ed allestire due set di piastre per ciascuna diluizione.
2. Inoculare il terreno per inclusione, spatolamento o con il metodo delle membrane filtranti. Le piastre RODAC possono essere utilizzate direttamente sulle superfici per valutare l'efficacia delle procedure di pulizia e sanificazione come parte del programma generale di monitoraggio microbiologico.
3. Incubare in atmosfera aerobica un set di piastre a 30-35°C per 3-5giorni e l'altro set a 20-25°C per 5-7 giorni.

NB. Le condizioni di incubazione possono variare in base agli organismi investigati. Generalmente, un'incubazione a temperatura più bassa e per un tempo prolungato, stimola la crescita delle cellule stressate e dei batteri tolleranti al cloro.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Riportare la conta come UFC/ml di campione tenendo conto del fattore di diluizione ed annotando tempo e temperatura di incubazione.

ASPETTO

Terreno disidratato: omogeneo, fine granulometria, beige chiaro.
Terreno preparato: ambra, leggermente opalescente con un leggero precipitato.

CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Conservare i flaconi e le piastre pronte a 10-25°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

DURATA

Terreno disidratato: 4 anni.
Terreno in flaconi: 2 anni.
Piastre pronte all'uso: 6 mesi.

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le piastre vengono inoculate con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.
Inoculo per produttività: ≤ 100 UFC.
Condizioni di incubazione: ambiente aerobico, a 32.5 ± 2.5°C fino a 3 giorni (batteri) e 22.5 ± 2.5°C per 5-7 giorni (lieviti e muffe).

Tabella CQ.

Microrganismo		Crescita
*Pseudomonas aeruginosa**	ATCC® 9027	Buona
*Bacillus subtilis**	ATCC® 6633	Buona
Enterococcus faecalis	ATCC® 19433	Buona
Escherichia coli	ATCC® 8739	Buona
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538	Buona
Candida albicans	ATCC® 10231	Buona
Aspergillus brasiliensis	ATCC® 16404	Buona

(*) Pharmacopoeia growth promotion.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi esclusivamente per uso in ambito professionale e deve essere utilizzato da operatori adeguatamente addestrati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

1. European Pharmacopoeia 7.0 (2009) Water For Injections / Water, Highly Purified.
2. Clesceri, L.S., A.E. Greenberg, and A.D. Eaton (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
3. Reasoner, D.J. and E.E. Geldreich (1985) Appl. Environ. Microbiol. 49:1-7.

PRESENTAZIONE		Contenuto	Ref.
R2A Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	20 piastre	10019
R2A Agar	Piastre da 60 mm pronte all'uso	20 piastre	163672
R2A Agar	Piastre RODAC da 55 mm pronte all'uso	20 piastre	15354
R2A Agar	Flaconi (tappo a vite)	Flaconi 6 x 500 ml	463110
R2A Agar	Flaconi (collo largo)	Flaconi 6 x 500 ml	472580
R2A Agar	Flaconi (tappo a vite)	Flaconi 6 x 100 ml	402580
R2A Agar	Terreno disidratato	500 g di polvere	610129
R2A Agar	Terreno disidratato	100 g di polvere	620129

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT Codice del lotto	Tenere al riparo dalla luce	Fabbricante	Utilizzare entro	Fragile, maneggiare con cura
REF Numero di catalogo	Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso	Non riutilizzare

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

LIOFILCHEM® s.r.l.
Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net